

RAPPORT DE MISSION EN COTE D'IVOIRE
25 octobre - 11 novembre 1989

J.L. JACOB



Institut de Recherches sur le Caoutchouc

*Département du Centre de Coopération Internationale
en Recherche Agronomique pour le Développement (CIRAD)
42, rue Scheffer 75116 Paris (France) - Tél. : (1) 47.04.32.15*

Télex : 620871 INFRANCA PARIS

**CHRONOLOGIE DE LA MISSION EN COTE D'IVOIRE
ET CALENDRIER DES ACTIVITES**

- 25 octobre Arrivée 18 heures
- 26 octobre Etablissement du programme.
Discussion sur l'équipement à prévoir dans
l'extension du laboratoire.
Discussion sur des rapports de recherche
de R. Lacrotte.
- 27 octobre Visite à la plantation. Expériences
J.C. Prévôt.
Discussion sur l'expérience TL 34,
exploitation d'aires drainées différentes
chez l'hévéa.
Visite à H. Chrestin à l'IIRSDA.
- 28 octobre Visite à la plantation. Expériences
E. Serres.
Point sur le diagnostic latex.
Rencontre avec des candidats ivoiriens
souhaitant suivre le programme de biologie
moléculaire.
- 29 octobre Visite des expériences exploitation à la
plantation avec J. Commère et l'équipe
physiologie.
Etude d'un rapport de recherche de
E. Serres (arbres étêtés).
Discussion sur la méthodologie du DL.
- 30 octobre Discussion avec J. Commère sur le
programme exploitation.
- 02 novembre Visite SAPH, Ousrou, Toupah et usines avec
MM. Hamel et Doloy.
- 03 novembre Discussion sur l'électrophysiologie et les
phénomènes de loading.
- 04 novembre Visite à la plantation (R. Lacrotte).
Contrôle de saignée et de stimulation.
- 05 novembre Tentative de DL à Bongo.
Discussion sur l'expérience des arbres
étêtés.
- 06 novembre Réunion encoche sèche.
Accueil de l'équipe biologie moléculaire à
l'aéroport de Port Bouet.

- 07 novembre Présentation de l'équipe de biologie moléculaire et mise en place de l'organisation.
- 09 novembre Discussion sur les systèmes de saignée J/2, J/3, J/4 (article J. Commère pour la Thaïlande).
Présentation par J.M. Eschbach du logiciel "Gestion des Parcelles".
Visite à l'IRHO Lomé (MM. Quincey et Dufresne).
Discussion sur le thème eau, sol, plante.
- 10 novembre le manipulation de biologie moléculaire (cinétique ARN en fonction du temps d'écoulement).
Visite à M. Ouayagodé, Directeur de la Programmation à la recherche.
- 11 novembre Visite à la plantation des expériences de A. Leconte.
Discussion avec J.M. Eschbach programme eau, sol, plante.

* *
* *

Au cours de cette mission différents sujets ont été abordés pour information réciproque, examen de résultats, discussion et analyse des expériences réalisées dans le cadre de la coopération qui existe entre les laboratoires de Physiologie de Montpellier et le service Exploitation-Physiologie de l'IRCA Côte d'Ivoire. Des contacts ont été pris également avec le service de biotechnologie du Dr Chrestin de l'IRSDA pour évoquer des problèmes scientifiques communs.

Les visites sur les plantations de Toupah et d'Ousrou de la SAPH m'ont permis de percevoir plus nettement certains problèmes liés à l'exploitation et notamment la gravité de l'encoche sèche dans certaines localisations.

Le travail de Jean-Claude Prévôt en mission à la même période a également donné lieu à examens et discussions.

L'initiation de l'opération biologie moléculaire avec l'arrivée de Valérie Pujade-Renaud, Anil Kush et Xavier Gidrol a également été suivie.

PROGRAMME EXPLOITATION

Le programme exploitation qui est le lien entre la recherche d'amont et l'application est d'une importance capitale. L'informatisation des prises de données et de leur traitement permet une analyse rapide et une actualisation très précieuse des suivis expérimentaux dans tous les domaines explorés.

Parmi les sujets traités l'adaptation des saignées aux clones les plus exploités : GT 1, PB 235, PB 217, PR 261, AVROS 2037 et PR 107 est de grand intérêt et examine l'influence de nombreux facteurs.

L'étude de l'influence de la mise en exploitation précoce se continue sur l'ensemble des motifs du clone choisi : le GT 1.

L'efficacité des saignées remontantes est analysée essentiellement sur deux clones GT 1 et PR 107 avec d'excellents résultats.

La fréquence de saignée réduite est étudiée sur PR 107, GT 1, LCB 1320 et PB 86. Les résultats dépendent des clones, le GT 1 étant semble-t-il le mieux adapté à cette réduction.

La surface expérimentale concernant le PB 235, planté à deux densités, a subi des dégâts importants dus à une tornade qui a surtout touché le motif à faible densité moins résistant au vent. Cette indication est à retenir dans la problématique de la densité de plantation.

Les saignées par piqûres sur encoche (PB 235) et l'exploitation intensive (2 encoches saignées par arbres) sont aussi examinées.

Les expériences de potentiel de production continuent sur les clones GT 1, PB 217, PB 235, AVROS 2037 et PR 261. Un nouvel essai est entrepris sur PB 217 avec une saignée hebdomadaire. Les résultats obtenus apportent des données de grand intérêt tant au plan de la recherche appliquée que de la recherche de base.

Il faut souligner que le diagnostic latex, s'avère un outil extrêmement utile pour apprécier l'état physiologique du matériel végétal des différentes expériences et aboutir aussi à des conclusions et des prévisions plus performantes.

PROGRAMME PHYSIOLOGIE**Métabolisme des laticifères et stimulation**

Trois rapports de recherches rédigés et résumés par R. Lacrotte ont été discutés : BM TL 26, BM TL 21 et BM TL 34.

BM TL 26. Etude de la régénération du latex entre deux saignées en J7 chez le clone GT 1.

La chronologie des événements observés décrit la mise en route des mécanismes de régénération du latex entre deux saignées : rééquilibrage en eau et pompage des assimilats nécessaires à la reconstitution du latex, accélération des activités métaboliques (avec production de réactions d'oxydoréduction) et accélération des activités de biosynthèse.

La stimulation accentue les phénomènes tant au niveau des échanges hydriques et des activités métaboliques. Néanmoins le faible chargement en saccharose du latex et la simple limitation de la baisse du Pi par rapport au témoin pose le problème d'un matériel végétal expérimental au préalable déjà fatigué (très faible RSH). La description des événements reste cependant logique et explicative du fonctionnement laticifère.

BM TL 21. Influence de la stimulation chez 3 clones : PB 217, GT 1, PB 235.

Des différences très nettes ont pu être observées entre les clones après stimulation. La réponse à la stimulation dépend des caractéristiques propres de chaque clone avant application d'Ethrel. La typologie de fonctionnement est confirmée après stimulation. D'un côté le PB 217 à métabolisme lent répondant bien à la stimulation, à l'opposé le PB 235 dont l'activité métabolique est naturellement intense. Le GT 1 se situant dans une position intermédiaire.

Dans cette expérience les paramètres suivants : poly A⁺ RNA et protéines solubles ont été mesurés. Leur étude a permis de préciser la théorie explicative du métabolisme productif et le rôle de l'éthylène selon les caractéristiques clonales.

BM TL 34. Statut physiologique de l'écorce par l'étude des paramètres du DL dans l'aire drainée et dans des zones différentes.

Les propriétés physiologiques du latex varient en plusieurs endroits du tronc de GT 1 en fonction de la position de l'encoche. Les zones d'écorce autre que l'aire drainée (au-dessus du panneau, panneau opposé) présentent un profil physiologique de tissu laticifère peu activé.

Par contre l'aire drainée est caractéristique d'une zone de tissu laticifère où les mécanismes de reconstitution du latex sont activés par la saignée.

La position de l'encoche semble conditionner directement la capacité des tissus laticifères, à régénérer leur contenu cellulaire. Dans le cas de l'encoche basse, l'activité métabolique cellulaire devient dépendante de l'approvisionnement en assimilats et en eau des laticifères. La capacité de régénération est alors incomplète. La production d'une encoche basse est alors logiquement inférieure, à la production d'une encoche haute.

Il se pose alors le problème des stocks de réserve (amidon du bois) et de leur utilisation, particulièrement chez l'encoche basse, dans l'effort de reconstitution du contenu laticifère après la saignée.

La baisse de ces réserves pouvant donc conduire à des difficultés d'alimentation glucidique, un métabolisme perturbé, signes de fatigue physiologique bien connu chez GT 1 en bas de panneau.

Aires drainées et production

L'examen de l'expérience BM OL 40 qui étudie chez le

GT 1 la possibilité d'utiliser la potentialité de deux aires drainées a permis de conclure à une insuffisance de stimulation sur les doubles encoches saignées alternativement en J/7 (l'arbre est dans ce cas exploité 2 fois par semaine). L'intensité de stimulation doit donc augmenter pour chaque encoche dans les limites utilisées pour les saignées hebdomadaires chez ce clone soit au moins 8 fois/an à 2,5 %.

Expérience utilisant les radiomarqueurs et l'électrophysiologie

Les données concernant les expériences mettant en jeu les radiomarqueurs et l'électrophysiologie sur les mécanismes de l'alimentation glucidique des laticifères, représente actuellement un ensemble très intéressant et informatif dans ce domaine d'importance majeure pour la physiologie de la production chez l'hévéa. Associés à d'autres résultats complémentaires obtenus lors d'expériences sur la stimulation, cet ensemble constituera la thèse de Régis Lacrotte et sera la synthèse indispensable et combien utile d'un travail de plusieurs années. La rédaction devrait être terminée en 1990.

De nouvelles expériences utilisant les radiomarqueurs ont été envisagées et discutées.

Dans l'axe des recherches déjà réalisées, il apparaît intéressant de se pencher sur l'étude du fonctionnement des laticifères *in situ*. Les expériences *in vitro* ont permis de modéliser les grandes voies de la régénération du latex et d'en entrevoir les étapes limitantes. Il s'avère maintenant nécessaire de préciser les mécanismes régulateurs physiologiques du métabolisme. Dans ce but l'utilisation de molécules marqués (saccharose ^{14}C par exemple) injecté dans l'écorce devrait permettre de suivre *in situ* le déroulement des séquences biochimiques liées à la régénération cellulaire et à la biosynthèse isoprénique

en particulier. Des protocoles expérimentaux et des problèmes analytiques afférents ont été examinés et discutés.

L'électrophysiologie

L'évolution de l'IRRSDA n'a pas permis de mettre en place l'unité d'électrophysiologie en Côte d'Ivoire prévue en 1990. Il est donc nécessaire, pour continuer à explorer le domaine qui ouvre des perspectives de connaissances aussi vastes que indispensables au plan de la biologie des laticifères de travailler en collaboration avec l'équipe du Professeur Rona à Paris VI. Il serait très important que R. Lacrotte puisse comme les années précédentes réaliser une expérimentation dans ce laboratoire, en 1990. Des contacts seront pris dans ce sens.

Influence de l'étêtage sur le fonctionnement laticifère

Un rapport de recherche commun L2/88 rédigé par M. E. Serres a été discuté et corrigé. Il a pour titre : "Influence de l'étêtage sur les caractéristiques physiologiques du latex d'*Hevea brasiliensis*". Les résultats rassemblent les données de l'expérience BM TL 14 recueillies en Côte d'Ivoire et celles des analyses réalisées à Montpellier. Les conclusions apportent des informations intéressantes sur les mécanismes de la physiologie de la production, tant au plan de l'écoulement que de la régénération. Il met notamment en évidence la présence d'un comportement de stockage des sucres qui permet, malgré l'absence de photosynthèse, le fonctionnement bien que ralenti et perturbé de la synthèse isoprénique. En outre malgré l'étêtage il a été possible d'observer au niveau des laticifères l'expression d'un rythme biologique de l'arbre lié au phénomène de la défoliation-refoliation.

Typologie clonale

La typologie clonale en fonction des caractéristiques métaboliques du système laticifère sur des jeunes arbres est en cours d'étude (BM OL 39) ou en préparation (BM OL 41) sous la responsabilité de E. Serres. L'importance du sujet tant en ce qui concerne la connaissance de base que l'application pouvant en découler est à souligner.

Expérience BM OL 39. Elle a débuté en août dernier, elle analyse les paramètres du latex de treize clones plantés en champ d'évaluation de seedlings (CES). Les hévéas de deux ans sont répartis en quatre répétitions de cinq arbres qui se suivent. La mesure du DRC, saccharose, RSH, Pi sont réalisés à partir d'un mélange de latex provenant de sept gouttes obtenus à partir de chaque arbre (GT 1, IRCA 111, IRCA 130, PB 217, PB 260, PR 107, PR 261, RRIC 101, RRIC 110, RRIM 600, RRIM 703 et AVROS 2037). La production est évaluée précisément les cinq premières saignées ont été réalisées par piqûres, les suivantes sont réalisées en 1/2 S d/3 6d/7. La réponse à la stimulation est également examinée. Les premiers résultats sont en cours de traitement.

Expérience BM OL 41. Elle est à mettre en place. Il s'agit d'étudier les critères physiologiques de clones (une quarantaine) plantés selon un dispositif de type champ comparatif à petite échelle (CCPE) (les graines des porte-greffes ont été mises en champ en septembre dernier).

Parmi les clones étudiés certains serviront de référence GT 1, AVROS 2037, IR 22, TJIR 1, PR 107, PR 261, les autres appartiennent à du matériel pouvant avoir un avenir en plantation (série des PB, des RRIC, des IRCA, et des PB).

Une exploitation précoce de trois ans et demi avec une stimulation intermédiaire permettra de réaliser des micro DL avant cette stimulation et en fin d'exploitation.

Des diagnostics seront réalisés par la suite après

l'ouverture à 5 ans 1/2 puis à 7 ans.

Diagnostic latex

L'utilisation du diagnostic latex selon la méthode classique ou selon la méthode simplifiée (micro DL) est maintenant courante. Toutefois il est nécessaire de se pencher sur un certain nombre de problèmes afin de fiabiliser et d'améliorer les techniques.

Des difficultés étaient apparues pour l'appréciation du DRC, dans le cas du micro DL, à partir des échantillons de 7 gouttes de latex. La coagulation du caoutchouc peut être imparfaite et le très faible volume du prélèvement augmente l'imprécision de la mesure. Le mélange des prélèvements de dix arbres tout en diminuant le nombre des dosages à réaliser permet également grâce au volume plus important de l'échantillon de déterminer selon la technique classique simple et précise l'évaluation de l'extrait sec.

Un autre problème est celui des différences observées entre les mesures effectuées par DL classique et par micro DL. Pour étudier ce problème un certain nombre d'expériences ont été faites par E. Serres.

La comparaison a été réalisée sur dix clones couramment plantés. Il apparaît effectivement que les valeurs obtenues par micro DL sont toujours supérieures à celles obtenues par DL classique. Le phénomène peut s'expliquer par la situation de l'échantillon. En micro DL le petit volume de latex est prélevé dans l'aire métaboliquement la plus activée des laticifères. En diagnostic classique l'échantillon est représentatif d'une aire drainée plus vaste et ne concerne que les laticifères exploités.

Il a été montré par ailleurs que les paramètres du micro DL varient en général relativement peu au cours des premiers ml de l'écoulement du latex chez 7 clones examinés (BM TL 36).

En outre des mesures effectuées sur des prélèvements

par pigûre à 10, 20 et 30 cm sous encoche ne montrent pas de différence significative ce qui tendrait à prouver que cette zone est métaboliquement activée d'une manière homogène.

Si, dans l'ensemble, l'interprétation du DL n'est pas remise en cause par ce problème. Il est cependant indispensable de mieux le comprendre afin d'en tenir compte le plus rigoureusement possible. Dans ce but un certain nombre d'expériences sont encore à prévoir.

L'utilisation du DL industriel, souvent loin du laboratoire d'analyse nécessite un conditionnement du matériel végétal permettant la stabilisation des éléments à analyser jusqu'au moment de leur dosages. Si l'extrait sec, le saccharose et le phosphore minéral ne posent pas de problèmes majeurs, il n'en va pas de même avec les thiols. Ce type de molécule, agent antisénescent, efficace dans sa forme réduite (RSH), peut s'oxyder très aisément (RS-SR) sous l'influence de nombreux facteurs extérieurs. Il est donc indispensable de protéger les RSH du latex pour éviter leur transformation et par conséquent la validité de leur dosage, dès le prélèvement des échantillons. E. Serres a commencé l'étude de ce problème. Dans un rapport préliminaire intitulé : "Essais de conservation des composés thiols en milieu aqueux", il conclut que l'ajout de 0,1 % d'EDTA à un sérum de latex fixé par l'acide perchlorique donne les meilleurs résultats la perte en thiols étant limité à 15-20 % au bout de 10 jours de conservation à température ambiante.

Ces résultats doivent être confirmés, sinon améliorés, de façon à contrôler l'évolution de ce paramètre d'une manière rigoureuse. Cette solution si elle se révélait opérationnelle présenterait de nombreux avantages pratiques quand à la réalisation du DL industriel. Dans le cas contraire, il est possible d'envisager le dosage sur champ des thiols avec un appareillage portatif lorsque l'éloignement des

plantations est trop important. Les autres paramètres : extrait sec, Pi et saccharose beaucoup plus fiables peuvent être mesurés au retour.

Il a été noté qu'un financement sur budget spécial d'investissement (BSIE) a été dégagé et va permettre d'agrandir les locaux destinés aux analyses du diagnostic latex (les travaux sont en cours) et d'acquérir du matériel (échantillonneur, pompe péristaltique, enregistreur, intégrateur) afin d'accroître d'une manière importante le potentiel d'analyse du laboratoire.

La rédaction prochaine par E. Serres d'une synthèse sur le thème diagnostic latex et typologie du métabolisme laticifère en relation avec la production est tout à fait indiquée pour lui servir également de travail de thèse.

Encoche sèche

Ce sujet a donné lieu à une réunion avec les participants suivants J.M. Eschbach, J.L. Jacob, Tran Van Canh, J. Keli, J.C. Prévôt, E. Serres, R. Lacrotte et J. Commère.

Le procès-verbal suivant a été rédigé par MM. J. Commère et J.L. Jacob.

Les grandes lignes du meeting de Penang sont rappelées.

Les stress inducteurs de l'encoche sèche

L'hypothèse d'une encoche réversible pouvant aboutir à un type irréversible a été proposée.

L'encoche sèche (TPD) semble être déclenchée par un stress. Il est nécessaire de confirmer et d'étudier l'influence de divers stress possibles.

- Stress de fatigue

Il est dû à une production trop forte et par conséquent à une sursaignée ou une surstimulation. Pour travailler dans ce domaine, il faut :

- exploiter les résultats de l'OL 36 (E. Serres) ;
- envisager des expériences d'intensité d'exploitation ou d'arrêt de saignée tendant à confirmer la récupération de l'encoche sèche réversible et la non récupération de l'encoche sèche irréversible caractérisée par des symptômes spécifiques, soit à la SOGB, soit à la SAPH, en travaillant au niveau de la parcelle.

- Stress écoclimatique

Un certain nombre de domaines doivent être explorés pour mettre en évidence ou confirmer l'influence de ces facteurs :

- la disponibilité en eau du sol ; les paramètres aidant à estimer ce caractère doivent être étudiés (à cet égard, l'examen des champs de comportements des différentes zones à pluviométrie variable peut être utile) ;
- la structure du sol capable d'induire des stress racinaires ;
- la composition minérale du sol pouvant exprimer des carences ou des toxicités susceptibles de provoquer le TPD.

Il serait souhaitable que la SOGB, par l'intermédiaire de M. Julien, puisse fournir les informations recueillies à ce sujet (JLJ tâchera de le contacter).

Dans ce cadre le pH du sol, dont dépend l'état organominéral, peut jouer un rôle non négligeable. Il est possible d'invoquer des expériences de comparaison entre parcelles touchées par le TPD et chaulées ou non.

- Stress cultureux

Certaines techniques culturales peuvent être à l'origine d'un stress (racinaire par exemple). L'examen d'un inventaire au niveau des parcelles peut apporter des éclaircissements à ce sujet.

L'aspect pathogène de la maladie

Bien qu'un certain nombre d'observations (lignes d'arbres malades, symptômes viraux, dispersion de la maladie dont on peut calculer "le pas épidémiologique", conduisent à penser à l'expression d'un pathogène dans le cas du TPD irréversible, aucune preuve cytologique (présence de richetsies ou de mycoplasmes) ni biochimique (diminution des protéines et modification de zymogrammes) n'ont pu être apportées d'une façon irréfutable.

Ce problème est cependant d'une importance capitale si l'on veut pouvoir lutter d'une manière moins aveugle, sinon aléatoire.

L'aide des phytopathologues est donc indispensable dans ce domaine. Si des études de base sont actuellement hors des possibilités de l'IRCA, faute de personnel et de matériel : microscopie à balayage, immunologie, analyse d'ARN, mise en évidence d'inhibiteurs éventuels, certaines expériences peuvent être envisagées.

- Confirmation de l'influence des zones forestières sur l'intensité de la maladie grâce à des enquêtes (en Côte d'Ivoire : Rapide Grah, SOGB, Bettier, Bongo et au Cameroun : CDC, HEVECAM).
- Essai de mise en évidence d'insectes vecteurs par utilisation d'insecticides.
- Utilisation de produits (tétracycline) activateurs drastiques des mycoplasmes (voir à ce sujet M. Renard de l'IRHO à Montpellier).
- Greffage de rejets obtenus à partir du recepage d'arbres présentant la maladie.
- Elimination ou isolement des arbres présentant le TPD.

L'encoche sèche et la sensibilité clonale

Une meilleure compréhension des raisons expliquant la forte ou la faible sensibilité d'un clone à l'encoche sèche peut être très utile.

L'influence génétique est incontestable à ce niveau. Il serait nécessaire à ce sujet de pouvoir connaître le type de transmission de ce caractère. A ce titre, le croisement de deux clones très sensibles (PB 235 x RRIM 703 par exemple, ce clone existe déjà) et de deux clones peu sensibles (PR 107 x PR 261) devrait donner des descendants dont le caractère de résistance serait très intéressant à étudier.

Il faut aussi réfléchir aux liaisons possibles avec la typologie métabolique des clones. La forte corrélation qui existe entre indice de plugging et sensibilité à l'encoche sèche est à rappeler.

Les méthodes de lutte

- La lutte curative

On peut rappeler l'éradication, l'isolement des panneaux, le grattage des zones malades. Cependant, toutes ces techniques ne sont pas applicables à grande échelle pour des raisons économiques et techniques.

- La lutte préventive

L'influence inductrice des stress et la sensibilité clonale à l'apparition de TPD tend à conseiller une exploitation optimisée en fonction des statuts physiologiques des arbres, et probablement la mise en place de clones résistant bien à la maladie dans des zones où les stress pédoclimatiques sont importants.

Le programme eau-sol-plante

Ce nouveau programme à mettre en place est extrêmement vaste et nécessitera collaboration de la physiologie et de la phytotechnie.

Ce sujet a été discuté avec J.M. Eschbach, J. Keli,

E. Serres, et moi-même. En outre nous avons rendu visite à l'équipe IRHO (MM. Quincey et Dufresne) qui travaille à Lomé.

Au plan de l'approche méthodologique, il sera intéressant de prendre connaissance de la thèse de M. Dufresne qu'il doit être possible de se procurer au service documentation de l'IRHO.

L'étude de la relation eau-sol-plante au plan général peut se définir schématiquement comme la détermination des caractéristiques hydriques du sol et de l'arbre en fonction de l'espace, du temps et du climat, et de leur relation avec la croissance et la production.

Plusieurs sujets sont à étudier :

- La disponibilité de l'eau dans le sol. Ce paramètre d'une importance capitale n'est pas, en réalité, facile à mesurer. De lui cependant dépendra la qualité de développement de l'arbre, sa capacité (du moins en partie) à produire par l'intermédiaire de l'écoulement et de la réponse à la stimulation.
- Le mouvement et la disponibilité de l'eau dans l'arbre. Plusieurs volets sont à considérer dans ce domaine : le fonctionnement et le rôle du système racinaire en tant que pompe refoulante vers la partie aérienne, le fonctionnement et le rôle de la couronne foliaire sur les mouvements hydriques au sein de l'arbre, en tant que pompe aspirante, les variations des caractéristiques hydriques liées aux aires drainées qui sous tendent en partie les paramètres de l'écoulement lors de la saignée. L'établissement d'un bilan hydrique de l'hévéa en fonction des facteurs écoclimatiques et ses relations avec l'évolution de la biomasse d'une part et de la production d'autre part devrait apporter des informations précieuses au plan de la connaissance de base et conduire à des applications non moins utiles au plan de l'optimisation de l'exploitation ou de la

recherche de critères de sélection.

- Les paramètres à analyser sont nombreux et leur mesure demande des appareillages plus ou moins sophistiqués.

Pour évaluer l'eau disponible du sol (potentiel hydrique), il est possible de faire de simples mesures pondérales d'échantillons prélevés à diverses profondeurs par une tarière en tenant compte de la nature et de la structure du sol. Cette méthode est employée par le RRII (Inde). Son inconvénient est de multiplier les forages et de ne pouvoir accéder à une profondeur importante. Le tensiomètre est facile à utiliser mais ne peut être employé pour des profondeurs supérieures à 2 m. Les sondes à neutrons sont onéreuses et difficiles à étalonner, mais donnent des résultats précis et les tubes une fois en place permettent autant de mesure qu'il est nécessaire à des profondeurs dépassant 5 m. Il faut noter que l'IRRSDA loue ce type d'appareil.

- L'étude des racines demande l'élaboration d'un programme de recherches précis car elle s'avère un sujet difficile. L'analyse descriptive est nécessaire et doit tenir compte de nombreux facteurs : age, nature du sol, agents climatiques. Elle devrait notamment aboutir à l'évaluation volumique du système racinaire par rapport à la biomasse. Dans ce domaine la méthodologie adoptée à l'IRHO pourrait orienter l'expérimentation. L'examen du fonctionnement des racines est aussi à considérer à différents niveaux et notamment au plan biochimique.
- Le flux de l'eau dans la partie aérienne de l'arbre met aussi en jeu le fonctionnement stomatique des feuilles. Différents critères doivent être pris en compte à ce sujet le potentiel hydrique des feuilles qui peut être mesuré par psychrométrie, la résistance stomatique et la

vitesse de transpiration par porométrie.

Au niveau du tronc la vitesse du flux de sève brute peut être déterminée par un appareil utilisant un couple de sonde thermique (ex. sonde de Granier). La pression de turgescence est aisément mesurée au niveau des manteaux laticifères par des micromanomètres (système de Boatman), mais ses variations sont également susceptibles d'être évaluées par dendrométrie.

La pression osmotique du latex est intéressant également à connaître en liaison avec la pression de turgescence, elle peut être déterminée par cryosmométrie, appareil que nous possédons déjà.

- La mesure des paramètres climatiques : température, pluviométrie, irradiance, déficit de pression de vapeur etc... nécessite un poste météo complet. Elle permet le calcul de l'évapotranspiration potentielle (ETP) et réelle (ETR).
- Eu égard à la complexité de ce sujet et aux moyens restreints en équipement et en chercheurs, le partage des tâches doit être soigneusement examiné. Il semble que le service physiologie puisse dans un premier temps localiser son action sur la disponibilité en eau et les flux hydriques au niveau du panneau de saignée et de l'aire drainée en relation avec la production. Mais il est évident que ces recherches soient, dans la mesure du possible, à intégrer dans un programme plus complet en collaboration avec des études traitant les autres volets du programme.

Il a été prévu afin de se familiariser avec l'approche scientifique de ce problème, mais aussi avec méthodologie spécifique et l'utilisation des appareillages adaptés que E. Serres fasse une mission de un mois à Kottayam à l'Institut Indien de Recherche sur le Caoutchouc (RRII). Ce dernier a, en effet, une expérience

non négligeable dans ce domaine, et est prêt à coopérer avec l'IRCA. Il serait également souhaitable que soit pris des contacts avec le Professeur Saugier qui collabore avec l'IRHO à ce type de programme.

Visite de Toupah

M. Hamel nous a fait visiter la plantation de la SAPH à Toupah et Ousrou.

Nos avons pu évoquer le problème d'encoche sèche, qui dans certaines localisations semble important, et non lié à de la surexploitation.

Nous avons également discuté des méthodes d'exploitation (stimulation, fréquence et orientation de saignées, longueur d'encoche, conduite de panneau) utilisés sur les sites.

Logiciel gestion des parcelles

Ce logiciel dont l'utilisation sera d'une grande utilité pour les agronomes de l'IRCA tant en ce qui concerne le suivi des parcelles qu'en ce qui concerne le traitement des données et leur utilisation en recherche, est en bonne voie de réalisation. Un exemple des "affichages des données parcelle et relevé" est joint en annexe.

Biologie moléculaire

La biologie moléculaire est un domaine en pleine expansion dont les méthodes permettent de faire progresser très efficacement la connaissance du fonctionnement cellulaire et partant d'avoir des retombées extrêmement utiles au plan appliqué. L'utilisation de cet outil nécessaire à l'acquisition de nouveaux marqueurs génétiquement définis en relation avec la production est aussi, à plus long terme, la clé indispensable à la mise en oeuvre du génie génétique. L'IRCA a donc décidé de commencer à travailler dans ce domaine. Dans ce but deux missions ont été programmées et organisées.

La première de très courte durée a pour but d'extraire et de purifier les ARN du latex de quelques clones représentatifs de la typologie clonale définie par les physiologistes de l'IRCA. Ces acides nucléiques dont la pureté aura été testée dans la mesure du possible seront ensuite étudiés, analysés et comparés, grâce notamment à des sondes disponibles dans le laboratoire de l'Institut Rockefeller à Singapour dont les laboratoires sont adaptés et équipés pour ce type d'étude. Cette opération a été confiée à deux chercheurs Seniors de haut niveau, spécialistes en Biologie moléculaire, le Dr Kush de l'Institut Rockefeller de Singapour et le Dr Gidrol de l'INRA Bordeaux.

La seconde mission a pour but d'étudier au niveau moléculaire le mécanisme intime de la stimulation de la production de latex par l'éthylène. De plus longue durée elle représente aussi le sujet d'une thèse qui sera réalisée par Mlle Valérie Pujade-Renaud. Dans un but d'efficacité eu égard au thème abordé R. Lacrotte travaillera en étroite collaboration avec elle afin d'apporter les connaissances physiologiques indispensables à la réalisation cohérente des expériences.

La proposition de ce programme se trouve en annexe. Le Directeur de thèse de V. Pujade-Renaud est le Professeur Guern de l'Université Paris VI. Le laboratoire spécialisé pour les analyses complémentaires est localisé à Paris.

Les trois missionnaires A. Kush, X. Gidrol et V. Pujade-Renaud sont arrivés le 6 octobre 1989 et ont aussitôt commencé leur travail.

Le Ministère de la Recherche Scientifique qui a donné son accord pour que ces missions aient lieu, a, en contrepartie, demandé que deux étudiants puissent également travailler en biologie moléculaire au laboratoire de Physiologie de l'IRCA sur des programmes à définir, afin de préparer leur thèse.

Ces deux jeunes chercheurs MM. Dian Kouadio et Koffi

Kouablan termineront leur DEA de génétique à la Faculté des Sciences d'Abidjan.

Si théoriquement le renforcement en chercheur est souhaitable dans le nouveau domaine, il pose cependant des problèmes. D'une part, l'expérimentation à mettre en oeuvre est très coûteuse et demande une prévision de financement appropriée, d'autre part, l'encadrement des étudiants eu égard à la situation actuelle, n'est pas assuré à l'IRCA Côte d'Ivoire, le séjour des missionnaires seniors ne dépassant pas 5 semaines. Ce dernier point, très grave, a d'ailleurs été évoqué lors d'une entrevue avec M. Ouayagodé (Directeur de la Programmation à la Recherche) à laquelle je participait avec MM. Banchi, Gidrol et Kush. Un appui devait être recherché à la Faculté des Sciences d'Abidjan.

REMERCIEMENTS

Je tiens à remercier vivement de leur accueil M. Banchi Directeur de l'IRCA-CIRAD en Côte d'Ivoire, M. Koné Directeur Administratif et MM. Commère, Serre et Lacrotte et tous les chercheurs de la base de Bimbresso qui par leur gentillesse et leur disponibilité ont facilité et valorisé ma mission.

PROPOSITIONS POUR UN PROGRAMME
DE RECHERCHE EN THESE
POUR Valérie PUJADE-RENAUD

OBJET : Etude au niveau moléculaire du mécanisme intime de la stimulation de la production de latex chez l'Hevea par l'Ethylène.

I - METHODOLOGIE

- 1 . Définition d'une méthode d'isolement des m-RNA, comparaison des différentes méthodes disponibles (méthode TUPY, méthode KUSH, méthodes diverses...)
- 2 . Etude de la reproductibilité de l'isolement et de la reproductibilité de la traduction
 - sur un même latex, le même jour
 - sur un même arbre à des saignées successives

Dosage global des m-RNA extraits
Séparation électrophoretique des m-RNA
(hybridation possible)
Traduction acellulaire in vitro et électrophorèse bidimensionnelle des protéines marquées traduites.
- 3 . Etude d'une méthode de conservation de m-RNA fonctionnels :
 - conservation par le froid (Azote liquide, carboglace)
 - la lyophilisation, la précipitation alcoolique...
- 4 . Problème : Faut-il travailler sur
 - les m-RNA du cytosol et/ou sur
 - les m-RNA liés à des fractions membranaires ?
 - Peut-on travailler sur la totalité des
 - m-RNA du latex après un traitement
 - détruisant les liaisons m-RNA-structures ?

- 5 . Définition de la méthode optimale pour réaliser des synthèses protéiques in vitro à partir de ^{35}S -Méthionine sur latex total.

Analyse des protéines marquées solubles dans le cytosol d'une part, des protéines marquées liées à des membranes (dont le tonoplaste et le RE) d'autre part.

Définition d'une méthode fiable et reproductible conduisant à des électrophorèses bidimensionnelles.

- 6 . Définition du système de saignée de l'arbre le mieux adapté à réduire la variabilité.

- La saignée normale conduit à des quantités importantes de latex, mais la perturbation métabolique induite par la saignée interdit de réutiliser le même arbre dans une étude cinétique.
- La saignée par piqure donne des quantités pouvant être très limitées de latex, ce qui autorise de suivre l'évolution d'un phénomène sur le même arbre.

- 7 . Hybridation m-RNA séparés par électrophorèse; on tentera de déterminer dans quelle mesure le traitement à l'éthylène modifie leur quantité dans le latex. On pourra utiliser le Northern Blott dans la mesure ou l'on réussira à avoir accès à des sondes d'ADN grâce à des contacts à établir avec divers laboratoires.

- 8 . Matériel végétal

- L'essentiel de l'expérimentation pourra être fait sur le clone GT1, bien connu au plan physiologico-biochimique et très planté.
- Ceci étant fait, on pourra avoir recours à d'autres clones typiques dont on sait qu'ils répondent très peu ou beaucoup au traitement stimulant.

II - EXPERIMENTATION

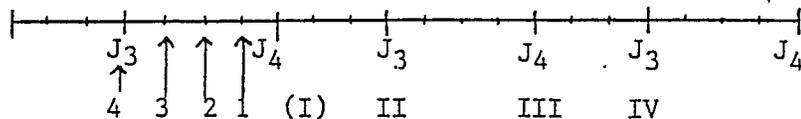
Le problème majeur auquel se heurte tous les chercheurs ayant travaillé sur le latex est la variabilité rencontrée d'un jour à l'autre d'une fraction de latex à l'autre... même lorsque l'on travaille sur le même clone.

Un certain nombre de dispositifs peuvent permettre de composer avec la variabilité et notamment une sélection extrêmement sévère des arbres sur des critères de croissance, de production et les paramètres physiologiques du latex.

L'objectif majeur de la recherche étant de définir le premier site d'action de l'éthylène il est clair que la quasitotalité de l'expérimentation sera cinétique. Cette cinétique peut être conçue à deux niveaux :

a - Cinétique grossière

L'étude réalisée sur des arbres saignés normalement tous les 3 jours (J3) ou tous les 4 jours (J4).



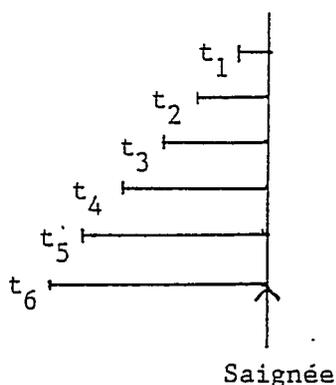
L'application de C_2H_4 pourra être faite en 1,2,3,4 c.a.d. a J-1, J-2, J-3, J-4 par rapport à la 1ère saignée après stimulation (I) les saignées suivantes, 2ème saignée (II), 3ème et 4ème (III et IV) pourront être étudiées.

On positionnera ainsi, même grossièrement, les différents événements.

b- Cinétique fine

Après un dégrossissement obtenu par des expériences du type précédent on cherchera à affiner la chronologie.

Afin d'éviter l'influence des conditions climatiques qui varient d'un jour de saignée à l'autre et qui modifient le rendement de la saignée les traitements stimulants seront effectués sur des lots d'arbres sélectionnés de façon extrêmement sévère quant à leur homogénéité.



Les traitements stimulants seront effectués au temps t_1, t_2, \dots, t_6 correspondant par exemple à 2,4,6,12,16, 18 h... avant la saignée.

Un lot d'arbre identique est saigné au même moment.

*
* * *

... Il ne s'agit, répétons le, que de propositions qui ont été élaborées par JL. JACOB, H. CHRESTIN et J. d'AUZAC le 5 Septembre 1989. ...

Elles pourront être discutées également avec X. GIDROL d'une part, E. SERRE et R. LACROTTE, physiologistes en place à l'IRCA Côte d'Ivoire, d'autre part qui ont une large expérience de la pratique de l'expérimentation sur Hevea.

Précisons d'ailleurs que R. LACROTTE prépare une thèse sur l'action de l'éthylène au niveau de l'influx du Saccharose U¹⁴C et d'autres marqueurs radioactifs dans le latex après qu'ils aient été appliqués au niveau de l'écorce grattée sur le panneau de saignée. Il travaille de plus en liaison avec le Pr. RONA en électrophysiologie pour caractériser le transport du saccharose au niveau du plasmalemma laticifère.

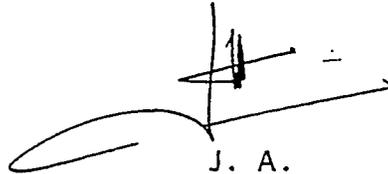
Le Pr. J. GUERN est en titre et en fait le Directeur de thèse de V. PUJADE-RENAUD et habilité, par principe à prendre en dernier ressort toutes les décisions.

PROPOSITIONS DE STAGE POUR V. PUJADE-RENAUD

- Semaine du 11 au 16 Septembre
Stage au Laboratoire de J.L. JACOB à l'IRCA-CIRAD :
Connaissances générales de la Physiologie et de la Biochimie du latex
- Semaine du 17 Septembre et au delà
Stage au laboratoire de X. GIDROL
 - Isolement de m-RNA issus de germination
 - Traduction in vitro
 - Electrophorèse bidim. de protéines
- D'autres stages peuvent être prévues en tenant compte des données suivantes :
 - 1 - Il est certes indispensable que V. PUJADE-RENAUD acquière en France, au départ, le maximum de compétences, de connaissances de tours de main, dans l'isolement, la purification, la conservation, la traduction des m-RNA.
 - 2 - Il y aura dès la fin Septembre en Côte d'Ivoire un rassemblement regroupant X. GIDROL, A. KUSH, J.L. JACOB et H. CHRESTIN. Parmi ceux-ci X. GIDROL et A. KUSH les plus compétents en Biologie Moléculaire ne seront là bas que 1 mois 1/2 il paraît tout à fait indispensable que V. PUJADE-RENAUD y soit également à cette période.
- V. PUJADE-RENAUD s'élournera à la station IRCA de Côte d'Ivoire le temps nécessaire à la mise au point d'une méthode fiable et reproductible permettant l'isolement et la conservation de m-RNA. Cette période qui

devra couvrir plusieurs mois est fondamentale pour la suite de sa recherche. De retour en France elle s'installera dans le ou les meilleurs laboratoires, cad les plus adaptés à l'étude électrophorétique des m-RNA et à leur traduction in vitro.

Des séjours à l'IRCA Côte d'Ivoire seront effectués à chaque fois que cela sera nécessaire autant pour la discussion et l'interprétation des résultats que pour se réapprovisionner en m-RNA.



J. A.

Montpellier le 7 Septembre 1989

AFFICHAGE des DONNEES PARCELLE et RELEVÉ

Pays: COTE D'IVOIRE	Société: IRCA	Localité: ANGUEDEDOU
Parcelle: PARC1	Date Planting: 6/1962	Date Recépage: 9/1963
	Date Age0 : 9/1963	Date Ouvert. : 6/1969
Surf Ha : 25.00	Clone : GT1	Abattage : Mécanique
Type Sol: Sable Tert	PorteGref: GT1 ILL	Andainage: 28 m
Relief : Plat	Prec Cult: Forêt	S Solage : 80 cm
Disposit: 7 X 2.8	Remplac. : 10%	Brûlage : Mauvais
Densité : 510		Dessouch : Non
TypPlant: Graine		PlantCouv: Pueraria
Remarques: RAS		

Exploitation date: 6/1988				
Nb Arb Total: 7500	Circf. 1,0m: 280	Age Exploita.: 19		
Arb Saig/ha : 280	Circf. 1,7m: 90.0	Kg/ha/an : 2000		
Arb Secs P/c: 5.4	Ht Ouvert. : 1.20	Kg/a/an : 3.92		
LEM P/c: 32.0	Ht Encoche : 1.15	g/a/s : 37.71		
Volume tâche: 375	Panneau : H0.1	Kg/Saigneur/j: 14.14		
Système Saignée:				
Longueur	Direction	Fréquence	Alternance	Durée
1/2 S	D	d/3	2 X y	11m/12
Système Stimulation:				
Produit	Concentration	Application	Quantité	Fréquence
Ethrel	2.5%	Pa	1 (1)	10/y
Remarque : RAS				

Entretien date = 6/1988				
Phytopathologie	Maladie	Note	Traitement	
Jeune feuille :	RAS			
Feuille adulte:	Oidium	12	Calixine	
Tronc :	RAS			
Racines :	Fomes			
Remarque phyto:				
Désherbage		Note	Traitement	
Végétation :	Graminée		Manuel	
Divers :	RAS			
Engrais	Nom	Kg/Ha	Nom	Kg/Ha
N :	Uree	50	K :	KCL 100
P :	Phosphate	50	Autre :	
Ebourgeonnage : RAS				

Diagnostic date = 6/1988				
Diagnostic Foliaire			Diagnostic Latex	
N : 3.28	N/P : 8.41	S : 0.276	ExS: 37.2	pH: 7.01
P : 0.39	K/P : 2.46	Cl: 0.025	Sac: 12.3	IE: 28
K : 0.96	N/K : 3.42	Cu: 10	Pi : 17.8	Mg: 20.3
Ca: 0.71	K/Mg: 2.18	Zn: 35	RSH: 0.75	IP: 14.0
Mg: 0.44	Mg/P: 1.13	Mn: 147	X1 :	X2: